

УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ

Усатенко Ю.С., Огурцов О.М.

*Національний технічний університет
«Харківський політехнічний інститут», м. Харків*

Інтерлейкіни – група сполук, що входять до складу цитокінів, які продукуються клітинами імунної системи і отримали назву гормони клітин імунної системи. Вони необхідні для кооперації клітин імунної системи в реалізації етапів імунної відповіді. На даний час відомо декілька препаратів на основі інтерлейкінів. Виробляють препарати: з діючою речовиною ІЛ-1 («Беталейкин»), що надає імуностимулюючу і гемостимулюючу дію; ІЛ-2 («Ронколейкин»), імуностимулятор, що збільшує протибактеріальну, протівірусну, протигрибкову та протипухлинну імунну відповідь. З кожним роком зростає виробництво препаратів на основі цитокінів.

ІЛ-3 відноситься до родини гемопоетичних ростових факторів. Активація гену інтерлейкіни-3 спостерігається через 4 години після стимуляції клітини та триває декілька діб. ІЛ-3 разом з еритропоетином підтримує ріст та диференціювання клітин еритроїдного відростку. В той же час ІЛ-3 здатен регулювати ранню стадію диференціювання В-лімфоцитів, піддержувати ріст пре-В-клітин, а також посилювати секрецію IgG.

Нами запропонована удосконалена біотехнологічна схема, яка дозволяє отримувати рекомбінантний людський інтерлейкін-3 в стабільному штамі - продуцента з високим виходом, що дозволяє ефективно проводити очищення за іноваційною технологією. Для цієї мети використана нова конструкція експресійної плазмиди, що містить додатково промотор РНК- полімерази фага Т7 (Pt7), в штамі E. coli BL21 (DE3), в хромосомі якого міститься ген Т7-РНК-полімерази під контролем індукованого промотора P_{tac}. Рекомбінантною плазмідною р3РТУІЛ3 трансформують клітини штаму E.coli BL21, культивують отриманий штам E.coli BL21(DE3)/р3РТЕІЛ3, вирощені клітини руйнують в буферному розчині і віділяють білок rhIL3, шляхом тристадійної очистки: спочатку афінною хроматографією на смолі типу Chelating Sepharose Fast Flow (Amersham Biosciences), імобілізованою іонами Cu⁺², далі розчин інтерлейкіну наносять на катіонообмінну смолу та інтерлейкін елюють градієнтом розчинів (0,0 – 0,5 М Na Cl), в буфері 50мМ Na (CH₃ COO), рН 5,5; насамкінець очищення мономерної форми інтерлейкіну від залишків полімерних форм проводять на третій стадії очищення гель – фільтрацією на смолі типу Superdex 75. Таким чином, запропоновано вдосконалення біотехнологічної схеми одержання ІЛ-3. Запропонований спосіб отримання інтерлейкіну-3, приводить до зниження алергічної дії препарату, підвищення ступеня чистоти продукту і збільшення виходу продукту.

Література:

1. Усатенко Ю.С. Біотехнологія удосконалення одержання цитокінів: дипл.проект, керівник проф. Краснопольський Ю.М. / Ю.С. Усатенко. – Харків: НТУ «ХПІ», 2016. – 80 с.
2. Біотехнологія / під ред. А.А. Басва. – М.: Наука, 1984.